维普资讯 http://www.cqvip.com

亚热带植物科学 Subtropical Plant Science 2006,35(2):5-8.

火百合花丝组织培养器官形成的细胞组织学研究

周祖富，艾素云，杨美纯，黎兆安

(广西大学 农学院，广西 南宁 530005)

摘 要：以火百合花丝节段为外植体，接种在附加 6-BA 1.0mg/L 和 NAA 0.2mg/L 的 MS 培养基上，诱导出愈伤组织及器官。经细胞组织学观察表明，细胞启动、愈伤组织形成及器官再生皆发生于外植体形态学下端的切口边缘及内方，而形态学上端的细胞自始至终未启动。器官发生的途径是通过愈伤组织间接产生，有的愈伤组织团单独形成芽或根，而有的愈伤组织团则同时分别从表面形成芽，内部形成根，通过维管组织连接成完整的植株。

关键词：火百合；花丝；器官发生；细胞组织学

中图分类号：Q944.6 **文献标识码**：A **文章编号**：1009-7791(2006)02-0005-04

Cytohistological Study on Morphogenesis in filament Culture of *Lilium* 'Star Gazer'

ZHOU Zu-fu, AI Su-yun, YANG Mei-chun, LI Zhao-an

(Agricultural College, Guangxi University, Nanning 530005, Guangxi China)

Abstract: Segments from filament of *Lilium* 'star gazer' were cultured as explants on MS medium supplemented with BA 1.0mg/L and NAA 0.2mg/L to induce callus and organs. Cytohistological observations on callus and bud formation were carried out. The results were as follows. Callus was initiated from the cut surface of the morphological lower side of explants; some callus packs developed into roots or shoots, and others developed into shoots from surface cells and developed into roots from inner cells.

Key words: *Lilium* 'star gazer'; filament; organogenesis; cytohistology

百合既是人们喜爱的观赏花卉，又兼具蔬菜与药用功能。近几年来，有关百合组织培养的研究报道不少，但大多是用叶片、鳞片及鳞茎盘等作培养材料[1-6]，而用花丝、子房及花柱等花器官进行培养则不多见[7-9]。本试验所用的材料火百合（*Lilium* 'Star Gazer'）是东方型百合的杂交种，花型大、花色艳丽，并具特别香味，是我国南方冬、春季鲜切花和盆花的主要品种[10]。本文以火百合花丝作外植体进行组织培养，并着重从细胞组织学角度观察细胞启动、愈伤组织形成和器官发生的过程，旨在为百合离体组织培养中细胞分化和器官形态发生提供基础理论。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为市售火百合切花的花蕾。

1.2 方法

取花蕾，在无菌超净台内用 75%酒精表面消毒后去除花瓣，用刀片切下花丝最基部约 6～8mm 长的节段作培养材料，接种在附加 6-BA 1.0mg/L 和 NAA 0.2mg/L 的 MS 固体培养基上。材料平放于培养基表面并用镊子往下轻压，让花丝充分接触培养基。置于室内自然光下培养，通过遮光，将最高光强

收稿日期：2005-11-28
基金项目：广西科技厅资助项目（桂科攻 0322008-2A）
作者简介：周祖富（1951-），男，广西阳朔人，高级工程师，从事植物生理生化和组织培养研究。

维普资讯 http://www.cqvip.com

调控在1 000 lx左右，培养温度26～28℃。重复4批，每批30～35瓶，每瓶10个外植体。于培养过程中，取不同培养时间、有代表性的外植体固定于FAA固定液中，常规石蜡制片法制片，全部作纵切面切片，厚度10μm，海氏苏木精染色，Leica DMLB显微镜(德国产)观察和照相。

2 结果与分析

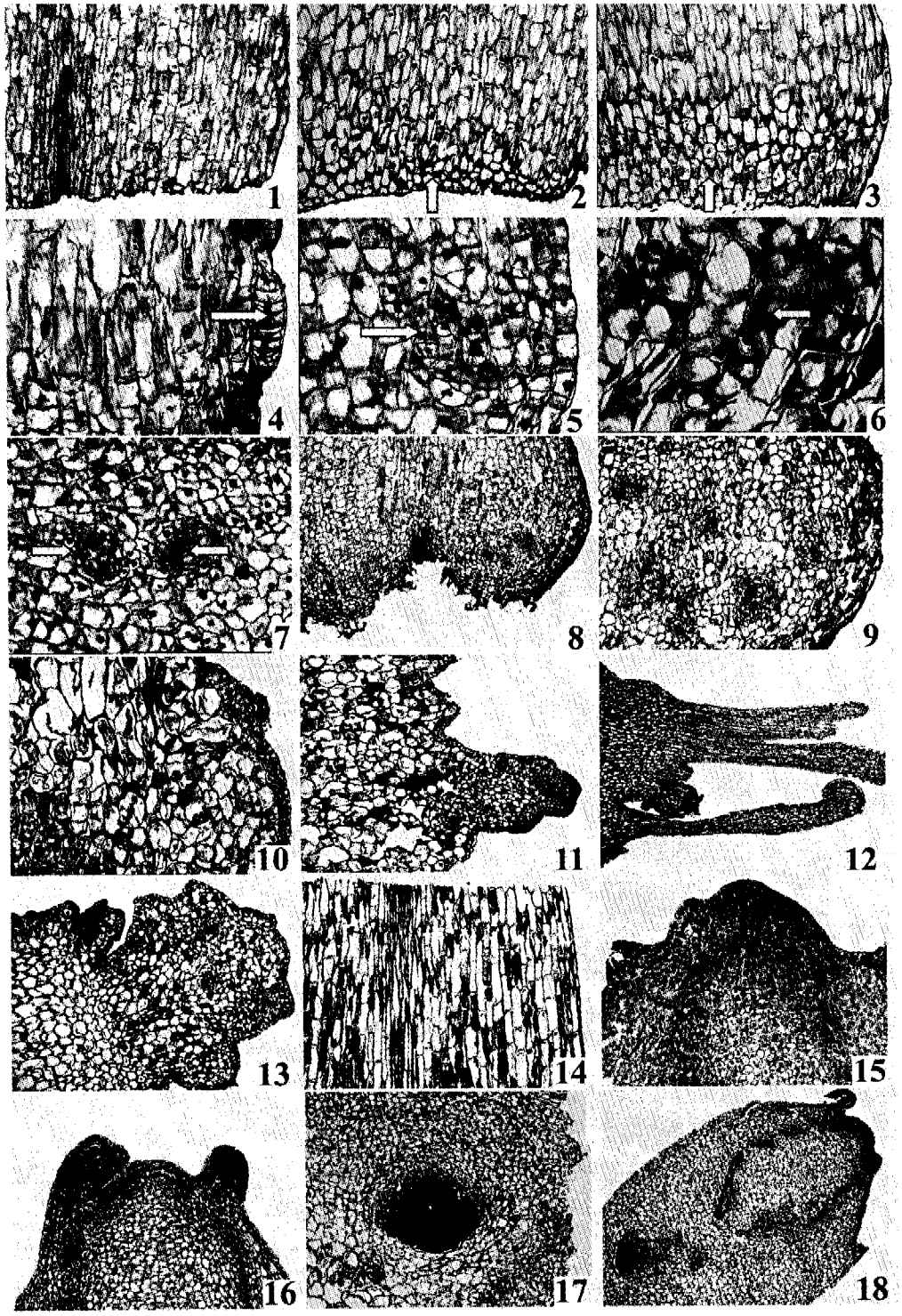
2.1 愈伤组织产生和器官形成

培养5d，外植体形态学下端切口处稍有膨大，表明细胞已经启动；培养10～15d，外植体形态学下端明显膨大；培养20d，该部位膨大更为明显，说明其组织内部已产生愈伤组织；培养25～30d，外植体下端切口周围形成外突的愈伤组织，由于突起的愈伤组织大小不一，致使表面出现凹凸不平现象；培养35～45d，愈伤组织突起迅速增多、增大，形成一个个瘤状突起；培养50～60d，突起的愈伤组织增多，并在形成较早的愈伤组织上产生了不定芽，随着不定芽的进一步生长、发育，叶片展开成为粗壮的幼苗，随着培养时间的延长，愈伤组织团上形成的不定芽增多。在此过程中，形态学上端及中部仍无膨大现象。

2.2 细胞组织学观察

刚接种的花丝外植体节段纵切面表皮1层，细胞长矩形，外壁稍厚并角质化；皮层薄壁细胞18～22层，形状也是矩形，但较表皮细胞短而宽；表皮和皮层细胞内皆具中央大液泡，细胞质和细胞核占比例小；花丝最中央为单个外韧维管束，多为管状细胞构成的输导组织（图版-1）。培养2d，外植体形态学下端切口内方的3～5层细胞开始启动产生极性，核向下移动到细胞的下端壁内侧；外植体其它部位的细胞未见变化（图版-2）。培养10d，形态学下端切口内方的5～6层细胞宽度增大，并在细胞中积累了大量的淀粉粒，由于淀粉粒过多，细胞核往往难以看到；此时在含有淀粉粒的细胞层上方又有2～4层细胞的细胞核也下移到细胞的下端壁内侧（图版-3）。培养15d，外植体下端切口内方细胞中的淀粉粒消失，一些细胞开始进行有丝分裂产生愈伤组织；两侧的表皮细胞通常只进行横向的垂周分裂，产生的子细胞排成一纵列（图版-4）；而皮层细胞则向各方向分裂，子细胞排列无规则（图版-5）；由于细胞的分裂面各异，有的母细胞衍生出来的子细胞在切片上观察不到细胞壁，而母细胞的细胞壁仍清晰可见，因此看上去极似多核的细胞（图版-6）。培养25d，外植体形态学下端切口内方多层细胞继续分裂形成愈伤组织，愈伤组织细胞与外植体原有细胞的特征不同，其细胞短、近等径、且排列无序；此时愈伤组织内部已开始分化，形成了分生组织结节（图版-7）；由于该时期表皮、皮层的愈伤组织细胞分裂活跃、增殖快，而中央的维管束细胞则不分裂，因此，外植体下端出现两侧分别向外和向下膨大，而中间凹陷的现象（图版-8）。培养35d，外植体下端切口内方的细胞分裂更为旺盛，细胞大量增殖，愈伤组织内形成的分生组织结节也更多，膨大更加显著（图版-9）。培养40d，外植体下端切口及两侧边缘的愈伤组织细胞重新启动，分裂形成新的具有胚性细胞特点的愈伤组织，这些细胞体积小、细胞质浓、核比例大；由于局部细胞分裂特别活跃，致使外植体边缘形成愈伤组织小突起（图版-10），随后伸长和增大，变成瘤状、条状等多种形状的突起物（图版-11、-12）。培养45d，外植体下端切口及两侧边缘向外突起的愈伤组织增多、增大，整个下端几乎全被外凸的、大小不等的愈伤组织所包围，外观似花朵状（图版-13）；而外植体上端切口边缘及节段中部的细胞自始至终未启动（图版-14）。培养55d，愈伤组织已分化形成再生器官。观察发现，不同的愈伤组织团产生再生器官的情况相似，一些愈伤组织团表面及附近几层细胞形成茎尖生长锥，之后进一步发育成芽原基和不定芽，在形成芽原基的同时，其下部的愈伤组织产生原形成层，继而发育成维管组织（图版-15、-16）。另一些愈伤组织团表面没有分化形成芽原基，而是在内部形成根原基进一步发育成不定根（图版-17）；此外还有的愈伤组织团分别在内、外形成根原基和芽原基，根与芽之间通过维管组织连成一整体，即完整植株的原始体（图版-18），进而发育为根、芽俱全的植株幼苗。

维普资讯 http://www.cqvip.com



图版　火百合花丝组织培养器官形成的细胞组织学变化

注：1.培养 0d 的外植体(×100)；2.培养 2d 的外植体，示形态学下端切口附近几层细胞的细胞核移到下端壁内方(×100)；3.培养 10d 的外植体，示下端切口附近数层细胞充满淀粉粒(×100)；4～6.培养 15d 的外植体，4 示表皮细胞横向垂周分裂形成纵列数个子细胞(×200), 5.示皮层细胞多方向分裂，子细胞排列无规律(×200), 6 示多核状细胞(×400)；7～8.培养 25d 的外植体，7 示愈伤组织内形成分生组织结节(×200), 8 示外植体下端皮层产生愈伤组织膨大，中央的维管组织不启动，出现凹陷(×50)；9.培养 35d 的外植体，下端更为膨大，愈伤组织内部产生大量分生组织结节(×100)；10～12.培养 40d 的外植体；10.下端愈伤组织边缘产生小突起(×100)；11.伸长、增

维普资讯 http://www.cqvip.com

大的愈伤组织瘤状突起(×50)； 12.伸长、增大的愈伤组织条状突起(×50)；13～14.培养45d的外植体(×50)，13为进一步增大的愈伤组织瘤状突起，形似花朵状，14为未启动的形态学上端及中部细胞；15～18.培养55d的外植体(×50)，15为愈伤组织外层分化出的芽原基，16为愈伤组织外层分化出具幼叶的不定芽，17为愈伤组织团内部分化出根原基，18为愈伤组织团分化出具有芽与根的植株原始体。

3 小结与讨论

本试验所用外植体材料为火百合花丝节段，其形态学的上下两端组织构成完全相同，培养时均为平放，两端接触培养基的机会基本一致。然而在培养过程中，细胞启动和愈伤组织的形成仅发生在形态学下端切口附近的数层细胞，之后器官再生也在该部位的愈伤组织内部或表层发生，而外植体形态学上端切口及节段中部的细胞却始终未产生相应变化。究其原因，可能是由于外植体内源激素及有机营养物质均由上往下运输，下端细胞中累积的激素及营养物质含量高，有利于细胞的启动和分化；或者是细胞、组织分化存在极性因素所致。这一现象与贾敬芬等[9]观察到的百合花丝愈伤组织在末端（形态学上端）形成的情况相反。真正原因有待进一步研究。

组培中外植体细胞启动期是细胞分裂的准备时期，因此，细胞内部的生理代谢活动非常活跃，如呼吸作用加强、蛋白质合成加快、与分裂有关的酶类活性大大增强等[11]。而显微水平上较明显的特征通常是：细胞质变浓、细胞核比例增大、核移向细胞中央等[12-14]。而本文发现，火百合花丝细胞启动的显微特征与上不同，其细胞仍为中央大液泡，细胞核虽稍有增大，但不明显，而且并非向中央移动，而是向细胞的下端壁移动，该现象在前人相关研究中均未见报道。

火百合花丝组织培养器官发生的途径是通过愈伤组织间接产生，在不同的愈伤组织团上分化的情况不一，有的单独形成芽或根，而有些愈伤组织团则同时分别从表层分化形成芽，从内部分化形成根，再通过维管组织连接成完整植株。

参考文献：

[1] 张立娟,等. 新铁炮百合的组织培养[J]. 大连大学学报, 2003,24(2): 66-68.

[2] 姚绍嫦,等. 铁炮百合组培中不定芽形成的细胞组织学观察[J]. 亚热带植物科学, 2005,34(2): 5-7.

[3] 丁兰,等. 新铁炮百合组织培养和快速繁殖研究[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 2001,37(1): 80-82.

[4] 阮少宁,等. 香水百合组织培养的试验研究[J]. 福建林学院学报, 2001,21(2): 142-145.

[5] 杨柏云,等. 切花百合组织培养的研究[J]. 南昌大学学报(理科版), 2000,24(4): 323-325.

[6] 赵庆芳,等. 东方百合组织培养和快速繁殖研究[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 2003,39(1): 66-68.

[7] 许宝辉. 百合子房组织培养研究[J]. 西南科技大学学报, 2003,18(3): 65-67.

[8] 吴若菁,等. 百合胚状体形成途径及植株的再生研究[J]. 福建林学院学报, 2003,23(4): 322-325.

[9] 贾敬芬,等. 百合花丝组织培养及其细胞学研究[J]. 植物学报, 1981,23(1): 17-21.

[10] 张诗君,等. 火百合的组织培养及快速繁殖[J]. 江苏农业科学, 2004,(4): 72-73.

[11] 刘庆昌,等. 植物细胞组织培养[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2003. 46-55.

[12] 韩碧文,等. 植物组织培养中器官建成的生理生化基础[J]. 植物学通报, 1993,10(2): 1-6.

[13] 陈火英,等. 番茄离体培养过程中器官发生的细胞组织学观察[J]. 武汉植物学研究, 2001,19(2): 91-95.

[14] 曾建军,等. 菘蓝离体培养过程中愈伤组织和再生芽发生的细胞组织学观察[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2004,29(6): 1069-1072.